©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Physiologische Untersuchungen an Euglena olivacea

Von Edmund Weber

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Wien und dem Zoologischen Institut der Hochschule für Bodenkultur Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Oktober 1951)

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Problemstellung und Literatur	615
II. Einführung:	
1. Morphologische Übersicht	617
2. Beziehungen zum Medium	618
3. Zystenbildung	619
III. Kultivierung .	620
IV. Verhalten in den Kulturen und Ernährung:	
1. Verhalten in Aqua destillata . . .	624
2. Verhalten in anorganischer Nährlösung .	624
3. Verhalten in Knopp-Lösung mit Kaseinzusatz	626
4. Verhalten in Kaseinkultur	627
5. Zusammenfassung	628
V. Dunkelkulturen	629
VI. Reizerscheinungen:	
1. Geotaxis .	631
2. Galvanotaxis	632
3. Phototaxis	634
VII. Untersuchungstechnik	635
VIII. Zusammenfassung	636
IX. Literaturverzeichnis	637

I. Problemstellung und Literatur.

Seit langem schon erregten die Flagellaten und insbesonders die Euglenen das lebhafteste Interesse verschiedener Forscher. Die ersten Flagellaten und mit ihnen auch die ersten Euglenen wurden beschrieben von O. F. Müller im Jahre 1786.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Doch man war sich über die systematische Stellung dieser kleinen Organismen noch nicht annähernd im klaren. Ehrenberg rechnet sie zu den „darmlosen Magentierchen", doch verdanken wir gerade ihm die ersten genaueren morphologischen Beschreibungen einiger Euglenen. Der Ausdruck „Flagellaten" wird erst 1853 von O. Cohn geprägt und setzt sich neben der alten Bezeichnung Mastigophoren bis heute durch.

Während Cohn die Flagellaten wegen ihres Chlorophyllgehaltes zu den Pflanzen stellte, versuchte Fr. v. Stein ein paar Jahre später durchaus ihre tierische Natur zu beweisen. Seine Hauptargumente waren die Bewegung, der Mund, die kontraktile Vakuole und der Kern. Diese Argumente waren jedoch unhaltbar, und so wurden die Flagellaten, zumindest die grünen Formen, von Carter (1856), Hofmeister (1867) und Schmitz (1882) endgültig dem Pflanzenreich einverleibt, wobei man sie in die enge Verwandtschaft zu den Algen stellte.

Die erste umfassende Arbeit stammt von Klebs (1882, aus dem botanischen Institut Tübingen), welche den Ausgangspunkt und die Grundlage für viele weitere Arbeiten bildete. Bei Klebs findet man zum erstenmal die Anschauung, daß die Protisten ein eigenes Reich bilden und daher weder zu den Pflanzen noch zu den Tieren gestellt werden können. Seither sind nun die verschiedensten Arbeiten über Euglenen erschienen, Kernteilungsstudien (Blochmann 1900, Keuten), physiologische und morphologische Untersuchungen (Ternetz, Pringsheim) und Beschreibungen vieler neuer Arten (Archiv für Protistenkunde). Eine hervorragende Arbeit möchte ich noch besonders erwähnen, eine Monographie der Euglena gracilis von Zumstein: „Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis". Zumstein bemüht sich in seiner Arbeit auf das beste, die Ernährungsverhältnisse dieses Organismus ans Licht zu bringen.

Klebs versucht, in die Systematik der Gattung Euglena Ordnung zu bringen, indem er 5 Typen aufstellt: Euglena viridis, Euglena deses, Euglena oxyuris, Euglena spirogyra, Euglena acus. Unter diese 5 Typen, wie er sie nennt, stellt er 15 verschiedene Arten, welche sich auch tatsächlich zwanglos unterordnen lassen.

Lemmermann stellt 35 verschiedene Arten zusammen und ordnet sie nach der Form der Chromatophoren. Da wir nun wissen, wie veränderlich die Chromatophoren bei den geringsten Umweltsänderungen sind, so hat diese Einteilung sehr wenig Wert, außer vielleicht einen praktischen, nämlich eine relativ schnelle Bestimmung.

Wie weit die Ernährung, welcher für die Systematik eigentlich sonst wenig Wert beigemessen werden kann, für das System der Euglenen Bedeutung hat, kann man noch nicht ermessen, da gerade in dieser Beziehung nur einzelne Arten genauer untersucht worden sind. Eine gewisse Richtung Euglena—Astasia ist unverkennbar. In den folgenden Versuchen möchte ich daher trachten, über Ernährungsverhältnisse wenigstens bei Euglena olivacea Klarheit zu bringen.

Auch das äußerst interessante Kapitel der Reizerlebnisse dieser Organismen möchte ich in dieser Arbeit streifen, da ich eine Gegenüberstellung verschiedener Reizerscheinungen noch nicht gefunden habe und weil meine Ergebnisse diesbezüglich in einem Gegensatz zu anderen Autoren stehen.

II. Einführung.

1. Morphologische Übersicht.

Der bewegliche Flagellatenzustand von Euglena olivacea ist von lang-spindelförmiger Gestalt und am Hinterende leicht zugespitzt. Die Länge der Flagellaten beträgt 70—85 μ, Breite 20 μ. Das Flagellum ist körperlang und befindet sich in seiner ganzen Länge in stetiger Bewegung. Es setzt sich in das Innere des Körpers fort, etwa 20 μ, und endigt in einem Basalkorn.

Der Protoplast ist von einer dünnen Membran bedeckt, welche eine Spiralstruktur nur äußerst zart angedeutet hat. Die Chromatophoren sind gelappte Scheiben, von denen jede ein unbeschaltes Pyrenoid besitzt. In jeder Zelle sind sowohl 5—7 Pyrenoide als auch ebenso viele Chromatophoren enthalten. Die Farbe der Chromatophoren hat einen leichten Stich ins Olivgrüne. Das Stigma ist kräftig rot und halbmondförmig bis dreieckig. Im Zytoplast befinden sich meist eine große Anzahl von eiförmigen Paramylumkörnern, welche vielfach die anderen Organellen verdecken und eine Untersuchung der lebenden Zelle sehr erschweren. Der Nukleus, welcher im hinteren Teil der Zelle liegt, ist daher im Leben im allgemeinen nicht sichtbar.

Im Palmellenzustand sind die Tiere breit-eiförmig bis kugelig. Die Chromatophoren sind Scheiben mit nur leichten Ausbuchtungen und berühren einander fast. Das Stigma ist kräftig rot und von gleicher Form wie bei den beweglichen Individuen. Die Palmella ist umgeben von einer dicken, schleimigen Gallerte, welche eine Dicke von 50 μ und mehr aufweisen kann. Als Speicherstoff findet sich reichlich Paramylum.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Die Teilungsstadien sind eiförmig und nur von einer dünnen Gallerte umgeben. Sie liegen am Boden des Kulturgefäßes, der oft von ihnen mit dicker Schicht bedeckt ist. Die Geschwindigkeit der Teilung scheint von der Temperatur abhängig zu sein; sie dauert 2—14 Stunden. Zur Teilung schreiten die Euglenen nur in Dunkelheit.

Die Dauerstadien sind vollkommen kugelig und von einer starken Membran umgeben, welche mit feinen Wärzchen besetzt ist. In diesen Zysten findet man reichlich Reservestoff, und zwar wieder ausschließlich nur Paramylum. Eine Ausscheidung von Schleim findet nicht statt.

2. Beziehungen zum Medium.

Sind im Medium, in welchem sich die Organismen befinden, optimale Bedingungen gegeben, so sind die Zellen im beweglichen Zustand, das heißt, sie schwimmen lebhaft mit der Geißel schlagend frei umher und machen von der Metabolie ihres Körpers nur wenig Gebrauch. Bei den metabolen Bewegungen verschwindet meist die Endspitze, und die Zelle erscheint hinten abgerundet. Im Besitz eines Flagellum findet eine Lokomotion durch Metabolie nicht statt. Die Vorwärtsbewegung durch Geißelschlag ist sehr flink und wird begleitet durch rasche Umdrehung um die Längsachse. Eine bestimmte Drehrichtung wird nicht bevorzugt, hat das Individuum jedoch eine bestimmte Drehrichtung eingeschlagen, so wird diese für längere Zeit beibehalten.

Am lebhaftesten ist die Bewegung bei einer Temperatur von 2° C—30° C. Steigt die Temperatur weiter über 30° C hinaus, so erstarren die Flagellaten und erwachen erst nach entsprechender Abkühlung zu neuer Bewegung. Temperaturen bis 45° C werden ohne nachhaltigen Schaden überdauert.

Sinkt nun die Temperatur unter 2° C, so erlahmt allmählich die Geißel und wird rückgebildet. Eine Lokomotion findet jetzt nur mehr durch metabole Körperveränderungen statt. Diese metabole Lokomotion geschieht folgendermaßen: Das Vorderende schwillt kugelartig an, indem das Zytoplasma nach vorne strömt. Diese Anschwellung bewegt sich nun peristaltikartig nach hinten, wodurch der Körper vorwärtsgeschoben wird. Sinkt die Temperatur noch weiter, hört jede Bewegung auf, und die Tiere frieren ein. Ein vorübergehendes Einfrieren überstehen die Organismen ohne Schaden, denn sie sind nach dem Auftauen frisch und beweglich wie zuvor. Mir ist es jedoch nicht gelungen, Euglenen, welche

länger als 3 Tage im Eis eingefroren waren, wieder zum Leben zu erwecken.

Im beweglichen Zustand nehmen die Tiere sowohl organische Substanzen auf als auch anorganische Salze zur weiteren Verarbeitung durch Assimilation (Klebs, 1882). Herrscht nun ein gewisser Mangel an organischen Stoffen, so wird das unbewegliche Stadium gebildet, die Palmella. Die Palmellen können sich so lebhaft teilen, daß sie ganze Gallertlager bilden. Diese befinden sich an der Oberfläche schwimmend oder an der Gefäßwand nahe der Oberfläche.

Jedoch scheint ein Mangel an organischen Stoffen für die Euglenen nicht die einzige Bedingung zu sein, um den beweglichen Zustand mit dem unbeweglichen zu vertauschen. Bei älteren Kulturen kommt es nämlich vor, daß plötzlich binnen wenigen Tagen sämtliche Flagellaten Palmellen bilden, so daß sich kaum mehr eine bewegliche Form findet. Gibt man zu dieser Kultur etwas frisches sterilisiertes Teichwasser dazu, so schlüpft ein Großteil der Organismen als bewegliche Flagellaten aus dem Palmellenlager, und sie führen das Leben weiter als geißeltragende Form.

3. Zystenbildung.

Zysten werden gebildet bei langsamer Austrocknung des Mediums. Läßt man die Kultur austrocknen, so gehen meist alle Individuen zugrunde. Um ein möglichst langsames Austrocknen zu erreichen, gibt man in die Kultur einen gut gewässerten sterilen Wattebausch. Ist die Temperatur hoch (über 20° C), so kann man das Kulturgefäß halb abdecken, damit die Austrocknung nicht zu rasch vor sich geht. Der Wattebausch muß hier den Schlamm in der Natur ersetzen. Zystenbildung findet auch in Aqua destillata statt.

Um die Zysten wieder zum Schlüpfen zu bringen, übergießt man sie mit Teichwasser oder einer Kulturflüssigkeit. Nach 1—2 Tagen befinden sich die Tiere wieder in beweglichem Zustand. Man kann die Zysten auch durch Übergießen mit Aqua destillata wieder zum Leben erwecken, doch gehen die Individuen bald zugrunde.

Flagellaten, die erst kurz aus der Zyste geschlüpft sind, bilden, wenn sie kurz darauf noch einmal eintrocknen, kein Dauerstadium mehr, sondern sterben ab. Es ist also offensichtlich, daß die neu aus der Zyste geschlüpften Organismen erst einen gewissen Lebensprozeß durchmachen müssen, um wieder zur Zystenbildung schreiten zu können.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

III. Kultivierung.

In freier Natur finden sich die Tiere in kleinen Wasseransammlungen in Sümpfen und zwischen Baumwurzeln. Das Wasser ist dort stark verunreinigt mit organischen Substanzen infolge von Zersetzungsprozessen verschiedener pflanzlicher Bestandteile.

Die Organismen, von welchen sich meine Kulturstämme herleiten, stammen zum Teil aus Inzersdorf, zum Teil aus der Lobau.

In Inzersdorf dient ein unbenütztes Fabriksgelände als Viehweide, auf welcher sich einige Bombentrichter befinden, welche infolge des hohen Grundwasserspiegels mit Wasser gefüllt sind, das von den Weidetieren, es handelt sich um Rinder und Schafe, durch Exkremente stark verunreinigt ist. In den mit Wasser gefüllten Fußstapfen am Rande der Bombentrichter fand ich Euglena olivacea in großen Mengen, vergesellschaftet mit Lepocinclis fusiformis.

In der Lobau fand ich die Euglena olivacea in kleinen Wasseransammlungen am Weg, in denen sich viel faulendes Laub von Ahorn und anderen Bäumen befand. Dort waren sie vergesellschaftet mit verschiedenen Phacus-Arten. Ferner konnte ich ihre Anwesenheit feststellen in Proben aus verschiedenen Regenpfützen in der Prater-Hauptallee, von Waldpfützen am Hameau und aus versumpften Wiesen am Wienerwaldsee, meist zusammen mit anderen Euglenen-Arten.

Um der natürlichen Zusammensetzung des Lebensmediums der Euglenen möglichst gerecht zu werden, stellte ich Dekokte von verschiedenen Pflanzenteilen her, wobei sich der Erbsenschotendekokt bestens bewährt hat.

Zur Herstellung desselben kochte ich eine Schote nach Entfernung der darin enthaltenen jungen Samen in 500 cm^3 Aqua destillata etwa 10 Minuten und filtrierte dann ab.

Die nach der Impfung auftretenden Bakterien trüben einige Tage das Wasser. 7—14 Tage nach erfolgter Impfung treten die Euglenen in größeren Mengen auf. Bei steriler Arbeit kann man wohl das vorübergehende Auftreten der Bakterien verhindern, doch scheint es, als ob dies die Entwicklung der Euglenen beeinträchtige und die Bakterien wichtige Zersetzungsarbeit zu leisten haben. In dieser Kultur bleiben die Organismen über 8 Monate am Leben, und zwar in solchen Mengen, daß nachts der Boden des Kulturgefäßes in 2 mm dicker Schichte mit sich teilenden Euglenen bedeckt ist, während tagsüber das Wasser intensiv grün gefärbt erscheint. Die Euglenen befinden sich zum überwiegenden Teil im beweglichen Zustand, und nur wenige Palmellen werden gebildet.

Kultur in Erbsenschotendekokt.

Auszug aus dem Versuchsprotokoll.

Tag	Kultur 12	Kultur 13	Kultur 14	Kultur 24
1.	geimpft mit Euglena oliv.	geimpft mit Euglena oliv.	geimpft mit Euglena oliv.	geimpft mit Euglena oliv.
3.	starke Trübung durch Bakterien	starke Trübung durch Bakterien	starke Trübung durch Bakterien	starke Trübung durch Bakterien
5.	leichte Aufhellung der Trübung	leichte Aufhellung der Trübung	leichte Aufhellung der Trübung	leichte Aufhellung der Trübung
7.	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen	leichte Trübung
9.	Kultur intensiv grün gefärbt	Kultur intensiv grün gefärbt	Kultur intensiv grün gefärbt	leichte Trübung
11.	desgleichen	desgleichen	desgleichen	zahlreiche Euglenen
13.				Kultur intensiv grün gefärbt
15.				desgleichen

Monat	Kultur 12	Kultur 13	Kultur 14	Kultur 24
1. April	geimpft mit Euglena oliv.	geimpft mit Euglena oliv.	geimpft mit Euglena oliv.	—
15.	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen	geimpft mit Kultur 14
1. Mai	desgleichen	desgleichen	desgleichen	zahlreiche Euglenen
15.				desgleichen
1. Juni				
15.				

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Monat	Kultur 12	Kultur 13	Kultur 14	Kultur 24
1. Juli	verunreinigt durch Chlorella	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen	zahlreiche Euglenen
15.	starke Verunreinigung durch Chlorella	desgleichen	desgleichen	desgleichen
1. Aug.	—			
15.	—			
1. Sept.	—		Palmellabildung, Teichwasserzusatz	
15.	—		bewegliche Formen	
1. Okt.	—		desgleichen	
15.	—	Palmellabildung, Teichwasserzusatz	Palmellabildung, Teichwasserzusatz	
1. Nov.	—	bewegliche Formen	verunreinigt durch Chlorella	
15.	—	desgleichen	—	
1. Dez.	—		—	

Man hat jedoch für genügende Lichtzufuhr zu sorgen. Diese erreicht man durch Kultivierung am Fenster, doch ist direkte Sonnenbestrahlung unbedingt zu vermeiden. Die Sonne erwärmt übermäßig die Kultur und schädigt die Organismen durch allzu starke Strahlung. Um mich vom Wetter und von der Jahreszeit in bezug auf das Licht unabhängig zu machen, verwendete ich eine künstliche Sonne. Am zweckmäßigsten hat sich dabei eine Glühlampe mit 40 Watt und darum herum ein Wasserkühlmantel von 3 cm Dicke erwiesen. Dabei beträgt die tägliche Besonnungsdauer 5—6 Stunden.

Die Organismen zeigen ihr Wohlbefinden nicht allein durch starke Vermehrung an, sondern auch dadurch, daß sie relativ groß sind, lebhaft im Wasser im geißeltragenden Flagellatzustand umherschwimmen und ihr Körper dicht erfüllt ist von Paramylumkörnern. Diese erschweren allerdings eine zytologische Untersu-

chung in vivo außerordentlich. Es sind kaum die Umrisse der Chromatophoren zu erkennen.

Betrachtet man das Nährsubstrat, so stellt man fest, daß der Erbsenschotendekokt gegenüber anderen Pflanzendekokten sehr viele Stickstoffverbindungen enthält, denn eben diese sind für die Leguminosen charakteristisch.

Sehr empfehlenswert für eine Anreicherung sind Erdkäseröhrchen (nach Mainx). Leider haben diese den Nachteil, daß sie wegen der auftretenden Gasblasen sehr schwer zu sterilisieren sind, ferner die Euglenen schon nach wenigen Wochen dazu neigen, in palmelloide Zustände überzugehen. Um solche Kulturen anzulegen, empfiehlt es sich, Kulturgläser in der Größe zwischen 50 cm^3 und 100 cm^3 zu wählen, am besten von zylindrischer Form. Man bringt dann ein etwa erbsengroßes Stück Käse oder ein halbes Gramm Kasein oder Pepton in das Gefäß. Darauf schichtet man 2 cm Erde und obenauf eine dünne Lage Quarzsand. Die Erde stellt eine ausgezeichnete Substanz zur Pufferung des Wassers dar, so daß sich der p_H-Wert kaum ändert. Ferner führt sie der Kulturflüssigkeit verschiedene Salze zu, welche die Organismen bei der Assimilationstätigkeit benötigen. Der Käse liefert die organischen Bestandteile.

Im Erddekokt konnte ich die Organismen wohl ziemlich lange am Leben erhalten, doch kann von einer massenhaften Vermehrung nicht die Rede sein. Zur Herstellung des Erddekokts kochte ich 50 g getrocknete und gesiebte Gartenerde in 1000 cm^3 Aqua destillata einige Minuten. Im Keller, also finster und kalt, ließ ich die schwebenden Bestandteile sich setzen, was gegen 14 Tage dauerte. Das nun klare abgezogene Wasser sterilisierte ich und beschickte es mit Euglena olivacea. Die Euglenen hielten sich zwar ziemlich lange, doch zeigten sie Neigung zur Palmellabildung.

Rein anorganische Nährlösungen wie die nach Knopp sind für die Kultur der Euglena olivacea ungeeignet, was jedoch nicht auch für alle anderen Euglenen gilt (Zumstein). Es werden nämlich bald nach dem Einsetzen der Organismen in die Kultur Palmellen gebildet, doch bleiben die Tochterzellen meist abgeplattet und gehen zugrunde. Einen guten Kulturerfolg jedoch erzielte ich, als ich zur Knopp-Kultur einen Zusatz einer organischen Substanz gab (Kasein). Davon soll noch später die Rede sein.

Mit der Kasein-Knopp-Kultur oder Pepton-Knopp-Kultur ist ein vorsichtiges Arbeiten am Platze. Diese Kulturen neigen nämlich sehr dazu, durch andere Protisten zu verunreinigen, und zwar in erster Linie durch verschiedene Arten von Scenedesmus und Chlorella, welche so massenhaft auftreten können, daß erstere in zentimeterdicker Schicht den Boden des Kulturgefäßes bedecken,

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

letztere schwebend im Wasser so überhandnehmen können, daß die Euglenen zugrunde gehen. Eine solche Verunreinigung ist aus der Kultur nicht mehr zu entfernen.

IV. Verhalten in den Kulturen und Ernährung.

1. Verhalten in Aqua destillata.

Bis auf eine einzige Art, Euglena quartana (hyalina), haben alle Euglenen die Fähigkeit, mit Hilfe ihrer Chromatophoren, also wie Pflanzen zu assimilieren (wobei ich jedoch bezweifle, daß jene als selbständige Art anzusehen ist). Wieweit Euglena olivacea von den beiden Ernährungsarten, Autotrophie und Heterotrophie, abhängig ist, zeigen die folgenden Kulturversuche.

Eine Anzahl Euglenen, welche ich in Aqua destillata brachte, hatten sich am 2. Tage abgekugelt und Zysten gebildet. Nun entspricht dies durchaus den Erwartungen. Sie finden keinerlei Salze, die für die Assimilationstätigkeit wichtig sind, noch finden sie organische Substanzen. Dies scheint den Reiz zur Enzystierung auszulösen, denn für die weiteren Lebensprozesse würden noch reichlich Reservestoffe (Paramylum) zur Verfügung stehen.

2. Verhalten in anorganischer Nährlösung.

Ich versuchte die Kultivierung in Knopp-Lösung (0,01% bis 0,05% in Aqua destillata), welche alle Salze für das Gedeihen grüner Pflanzen (Algen) enthält, doch keinerlei organische Substanzen.

Da ergibt sich folgendes Bild: Ein Großteil der Organismen hat nach 2 Tagen die Geißel abgeworfen und bewegt sich träge metabol; ein kleiner Teil hat sich abgekugelt; ein verschwindend kleiner Teil ist noch geißeltragend. Nach wenigen Tagen finden sich nur einzelne Zysten, im übrigen nur zugrunde gegangene Palmellen. Der Befund spricht dafür, daß Euglena olivacea holophytisch, also rein autotroph, nicht leben kann.

Mit einer Kultur von Knopp 0,025% in sterilisiertem Teichwasser hatte ich ein wesentlich anderes Ergebnis, doch ist dieses ähnlich einer Kultur in reinem Teichwasser. Nach wenigen Tagen beginnen die Flagellaten Palmellen zu bilden, bis schließlich kein einziges freischwimmendes Individuum in der Kultur mehr zu finden ist. Wurde die Kultur vor der Impfung zu wenig gründlich sterilisiert, so können Ziliaten (Coleps) und Algen (Scenedesmus) in großen Mengen auftreten.

Kultur in Aqua destillata und Knopp-Lösung.

Auszug aus dem Versuchsprotokoll.

Datum	Kultur 52	Kultur 53	Kultur 54
3. 11. 1949	Aqua destillata geimpft mit Kultur 24	Knopp 0,01% in Aqua destillata geimpft mit Kultur 24	Knopp 0,05% in Aqua destillata geimpft mit Kultur 24
4. 11. 1949	Euglenen liegen am Boden, doch schlagen mit der Geißel	Euglenen liegen am Boden, doch schlagen mit der Geißel	Euglenen liegen am Boden, doch schlagen mit der Geißel
5. 11. 1949	Zysten	Geißel abgeworfen, ein Teil der Zellen abgekugelt. Rest metabol	Geißel abgeworfen, ein Teil der Zellen abgekugelt. Rest metabol
6. 11. 1949	Zysten	Zysten, Palmellen. Rest stark verblaßt	Zysten, Palmellen. Rest stark verblaßt
9. 11. 1949	Zysten	einzelne Zysten, platte Palmellen	einzelne Zysten, platte Palmellen
12. 11. 1949	Zysten	einzelne Zysten, andere Individuen tot	einzelne Zysten, andere Individuen tot

Kultur in Teichwasser mit und ohne Knopp-Lösung.

Auszug aus dem Versuchsprotokoll.

Datum	Kultur 55	Kultur 56	Kultur 57
3. 11. 1949	Teichwasser geimpft mit Kultur 24	Teichwasser mit Knopp 0,01% geimpft mit Kultur 24	Teichwasser mit Knopp 0,025% geimpft mit Kultur 24

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Datum	Kultur 55	Kultur 56	Kultur 57
5. 11. 1949	Organismen schwimmen lebhaft, wenig Palmellen	Organismen schwimmen lebhaft, wenig Palmellen	Organismen schwimmen lebhaft, wenig Palmellen
8. 11. 1949	fast alle Individuen im Palmellazustand	fast alle Individuen im Palmellazustand	fast alle Individuen im Palmellazustand
12. 11. 1949	desgleichen	desgleichen	desgleichen
19. 11. 1949		" starke Vermehrung	" starke Vermehrung

3. Verhalten in Knopp-Lösung mit Kaseinzusatz.

Betrachten wir nun die Verhältnisse in einer Kultur, deren Medium aus einer Knopp-Lösung mit einem Zusatz von Kasein besteht. Ich impfte 2 Kulturen; die eine konnte ich steril erhalten, die andere habe ich nicht sterilisiert, so daß darin auch andere Protisten zur Entwicklung kamen.

Die Kultur Nr. 63 enthielt nach einer Woche Palmellen, welche sich lebhaft vermehrten, so daß nach 14 Tagen in der Kultur mit freiem Auge grüne Flocken zu sehen waren, welche sich nach mikroskopischer Untersuchung als Klumpen von Palmellen erwiesen. Allmählich ergrünte diese Kultur weiter, doch waren nur ausnahmsweise freischwimmende Flagellaten zu beobachten. Dieses Resultat gleicht dem der Kulturen Nr. 55—57 (siehe oben). Daraus ziehe ich den Schluß, daß Euglena olivacea Kasein nicht zur Ernährung verwendet.

Bei Kultur Nr. 64 ist die anfängliche Entwicklung ähnlich wie bei der vorher beschriebenen Kultur. Nach einer Woche bemerkte ich viele Palmellen, während nur einzelne Organismen freischwimmend waren. Am Boden des Kulturgefäßes lagen zwischen Bakterien viele Heliozoa, dazwischen schwammen zahlreiche Flagellaten der Spezies Bodo edax umher. Nach 14 Tagen konnte ich nicht viel Veränderung bemerken, höchstens, daß die Palmellen von Euglena olivacea zahlreicher wurden. Nach 3 Wochen ergaben meine Untersuchungen zahlreiche freischwimmende Euglenen, während die Zahl der Palmellen stark zurückgegangen ist. Dies ist nun ein großer Unterschied gegenüber der sterilen Kultur. Kasein kann also nicht aufgenommen werden, wohl aber, wenn es zersetzt ist.

Knopp-Kultur mit Kasein.

Auszug aus dem Versuchsprotokoll.

Tag	Kultur 63 (steril)	Kultur 64 (verunreinigt)
1. Tag	geimpft mit Kultur 24	geimpft mit Kultur 24
8. Tag	Palmellen	Palmellen, Heliozoa, Bodo edax, Bakterien
14. Tag	zahlreiche Palmellen	zahlreiche Palmellen, Heliozoa, Bodo, Bakterien
21. Tag	desgleichen	Palmellen, freischwimmende Euglenen, Heliozoa, Bodo, Bakterien
28. Tag		Palmellen, zahlreiche freischwimmende Euglenen

4. Verhalten in Kaseinkultur.

Um rein organische Kulturen herzustellen, verwendete ich Kasein in Aqua destillata, wobei ich 3 verschiedene Konzentrationen wählte: Kultur 65 0,01%, Kultur 66 0,02%, Kultur 67 0,1%. Alle 3 Kulturen impfte ich mit Kultur 24. Nach einer Woche ergaben meine Untersuchungen neben Bakterien zahlreiche Heliozoa und Bodo edax. Nach 14 Tagen war in keiner der 3 Kulturen eine Änderung aufgetreten. Nach 3 Wochen waren Kultur 65 und 66 erfüllt mit freischwimmenden Euglenen, während Kultur 67 unverändert war. Nach 4 Wochen waren in allen 3 Kulturen zahlreiche Flagellaten von Euglena olivacea.

Dabei konnte ich eine merkwürdige Feststellung machen: Die Euglenen dieser Kulturen waren sehr blaß, doch waren die Zellen dicht erfüllt mit Paramylumkörnern. Die Form der Cromatophoren konnte man überhaupt nicht erkennen, da diese so hell waren, daß das ganze Individuum einen zartgrünen Schimmer zeigte.

Die blasse Farbe der Chromatophoren allein wäre nicht ausreichend, um auf eine geringe Assimilationstätigkeit zu schließen, doch zeigte eine Färbung mit Fuchsin-S oder Eisenhämatoxilin, daß in jeder Zelle nur 1—2 Pyrenoide vorhanden waren, welche in der hinteren Zellhälfte lagen. Die Organismen reduzieren also die Nahrungsaufnahme durch Photosynthese und ernähren sich überwiegend heterotroph.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Kaseinkultur.

Auszug aus dem Versuchsprotokoll.

Tag	Kultur 65	Kultur 66	Kultur 67
1. Tag	Kasein 0,01% geimpft mit Kultur 24	Kasein 0,02% geimpft mit Kultur 24	Kasein 0,1% geimpft mit Kultur 24
8. Tag	Heliozoa, Bodo edax, Bakterien	Heliozoa, Bodo edax, Bakterien	Heliozoa, Bodo edax, Bakterien
14. Tag	desgleichen	desgleichen	desgleichen
21. Tag	zahlreiche blasse Euglenen	zahlreiche blasse Euglenen	
28. Tag	desgleichen	desgleichen	zahlreiche blasse Euglenen

5. Zusammenfassung.

Diese Kulturreihe zeigt uns deutlich die Ernährungsverhältnisse bei Euglena olivacea. Wie aus den Kulturen 53 und 54 hervorgeht, kann sich diese Euglene rein autotroph nicht ernähren. Dies steht im Gegensatz zu Euglena gracilis, welche nach Zumstein auch autotroph leben kann.

Ein geringer Zusatz einer organischen Substanz genügt aber schon, um die Lösung für Euglena olivacea brauchbar zu machen. Dies zeigt uns die Knopp-Lösung in Teichwasser (Kultur 56 und 57). Im Teichwasser sind an und für sich schon Spuren organischer Substanzen gelöst, welche noch vermehrt werden durch den Zerfall der darin enthaltenen Mikroorganismen durch das Sterilisieren.

Kasein kann nicht aufgenommen werden. Die Organismen, welche den Kaseinumbau bewerkstelligen, waren Bodo edax und Heliozoa, letztere aber fraßen wahrscheinlich nur die massenhaft auftretenden Bakterien und nahmen so nur sekundär an der Aufarbeitung teil. Doch Bodo edax frißt bekanntlich keine Bakterien.

Wie aus Kultur 65, 66 und 67 hervorgeht, können sich die Euglenen (Euglena olivacea) rein heterotroph ernähren. In diesen Kulturen zeigt sich die Merkwürdigkeit, daß die Chromatophoren

blaß sind, ohne jedoch an Größe stark reduziert zu werden, was gefärbte Präparate zeigen. Die Pyrenoide werden an Zahl stark herabgesetzt, ich fand in diesen Organismen höchstens 2, anstatt wie normal 5—7. Es fand sich in den Zellen jedoch kein Hämatochrom wie bei den Dunkelkulturen mit Erbsenschotendekokt (siehe folgendes Kapitel).

V. Dunkelkulturen.

Die Kultivierung im Dunkeln wird uns zeigen, ob der Organismus in der Lage ist, auf die Assimilation zu verzichten, und inwiefern er sich bei einer Lebensweise im Dunkeln morphologisch verändert.

Im folgenden möchte ich meine Beobachtungen bei der Kultivierung von Euglena olivacea in Erbsenschotendekokt im Dunkeln darlegen. Da ich bei mehreren gleichen Kulturen dasselbe Ergebnis hatte, möchte ich erst gar keinen Auszug aus meinem Protokoll geben, sondern meine Beobachtungen chronologisch ausführlich darstellen.

Ich stellte in oben angeführter Weise einen Erbsenschotendekokt her und impfte diesen mit Euglena olivacea. Diese Kultur stellte ich an die künstliche Sonne und ließ sie voll zur Entwicklung kommen. Nach 4 Wochen dunkelte ich die Kultur vollkommen ab, indem ich sie in ein dafür hergerichtetes Kästchen stellte. Auch bei der Entnahme der Proben war ich darauf bedacht, daß die Kultur möglichst wenig von Licht getroffen wurde.

1 Tag Dunkelkultur: Die Kultur in das Dunkelkästchen gestellt. Die Euglenen sind in bester Entwicklung in freischwimmender Form, die Chromatophoren kräftig grün, 5—7 Pyrenoide und die Zellen vollgestopft mit Paramylumkörnern.

1 Woche Dunkelkultur: Ein Großteil der Organismen zeigt kleine rotgefärbte Bläschen im Inneren der Zelle, welche vermutlich aus Hämatochrom bestehen.

2 Wochen Dunkelkultur: Alle Organismen besitzen viele „Hämatochrom"-Bläschen, oft 20 und mehr.

3 Wochen Dunkelkultur: Die Form der Zellen hat sich stark verändert. Die Tiere sind breit und die Bewegung ist langsam und schwerfällig. Die Menge des Hämatochroms hat weiter zugenommen. Die Chromatophoren sind scheibenförmig und an Zahl reduziert, bei einzelnen Individuen auf drei bis vier Scheibchen. Paramylum reichlich vorhanden, doch scheint es mir etwas weniger geworden zu sein.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

4 Wochen Dunkelkultur: Die Organismen besitzen keine Geißeln mehr. Sie bewegen sich am Boden und an den Wänden des Kulturgefäßes träge metabol. In vielen Zellen findet sich ein großer Hämatochromklumpen, welcher sich bei einzelnen Individuen braun verfärbt hat. Die Chromatophoren haben zwar an Größe nicht mehr sehr abgenommen, doch an Zahl. Bei einzelnen Individuen nur mehr ein bis zwei Chromatophorenscheiben. Keine Pyrenoide. Paramylum fast aufgebraucht.

5 Wochen Dunkelkultur: In allen Zellen findet sich ein brauner Hämatochromklumpen. Die Chromatophoren sind unverändert. Paramylumkörner gänzlich aufgebraucht. Einzelne Organismen abgestorben.

6 Wochen Dunkelkultur: Keine Veränderung.

8 Wochen Dunkelkultur: Keine Veränderung.

10 Wochen Dunkelkultur: In vielen Zellen finden sich mehrere braune Hämatochromklumpen. Die Chromatophoren sind kleine Scheibchen. Ein Teil dieser Organismen ist abgestorben.

Die Palmellen haben sich in den Dunkelkulturen ähnlich verhalten, nur daß bei ihnen alles langsamer vor sich ging. Erst nach vier Wochen zeigte sich eine deutliche Reduktion der Chromatophoren. Nach 10 Wochen konnte ich jedoch eine merkwürdige Beobachtung machen: Die scheibchenförmigen Chromatophoren waren bei einem Großteil der Individuen rot gefärbt. 10—14 Tage nach dem Rotwerden der Chromatophoren gingen die Organismen ein.

Wie schon im vorigen Kapitel dargelegt, zeigten die Euglenen in der Kaseinkultur am Licht sehr schwach gefärbte Chromatophoren und eine teilweise Reduktion der Pyrenoide. Drei Wochen nach erfolgter Impfung stellte ich die mit blassen Individuen erfüllte Kaseinkultur in den Dunkelschrank in der Hoffnung, farblose Individuen zu erhalten.

Nach einer Woche Dunkelkultivierung hatte ich tatsächlich vollkommen farblose Individuen. Die Zellen enthielten weder Chromatophoren noch Pyrenoide, wohl aber waren sie vollgestopft mit Paramylumkörnern. Ich konnte jedoch bei keiner einzigen Zelle das Auftreten von Hämatochrombläschen beobachten. Diese farblosen Organismen überimpfte ich weiter in eine neue dunkelgestellte Kaseinkultur, welche bald dicht besiedelt war von farblosen Individuen der Euglena olivacea.

Es ist mir gelungen, diese farblosen Individuen über vier Monate im Dunkeln zu kultivieren, ich mußte jedoch alle 5—6 Wochen in eine neue Kultur überimpfen. Die Euglenen hatten immer die normale Körperform und schwammen lebhaft umher. Die Bildung von Palmellen konnte ich nicht beobachten.

Aus diesen Kulturen geht hervor, daß bei Euglena olivacea weder Form noch Zahl der Chromatophoren konstant ist; das Vorhandensein der Pyrenoide ist nur von der Assimilationstätigkeit abhängig; Euglena olivacea kann bei geeigneter Nährlösung auf Licht und somit auf Ernährung durch Assimilation vollständig verzichten, mit anderen Worten, dieser Organismus hat die Fähigkeit, sich rein heterotroph zu ernähren.

VI. Reizerscheinungen.

Wie alle Organismen sind auch die Protisten für die verschiedensten Reize der Umwelt zugänglich. Obwohl sie keine besonderen Organellen für eine spezifische Reizperzeption besitzen, reagieren sie doch auf gewisse Reize sehr spezifisch. Als einziges Reizperzeptionsorganell kann bei den Euglenen das Stigma gelten, obwohl nach Jennings (1910) auch das Zytoplasma, welches dem Stigma vorgelagert ist, hoch lichtempfindlich ist.

1. Geotaxis.

Ein Reiz, welcher dauernd auf die Organismen wirkt, ist die Schwerkraft. Besonders hervorheben möchte ich auf diesem Gebiet die Untersuchungen von Jensen (1913), dessen hervorragende Arbeit im Archiv für die gesamte Physiologie erschienen ist.

Wie fast alle Protisten sind auch die Euglenen negativ geotaktisch. Sie halten sich mit Vorliebe in den obersten Schichten des Kulturmediums auf, wenn sie nicht durch andere Reize abgelenkt werden.

Erschüttert man das Kulturgefäß, so streben alle Euglenen der Erde zu. Was hat es damit für eine Bewandtnis? Es ist durchaus möglich, daß es nur eine Fluchtreaktion vor den bewegten Wasserteilchen ist. Durch die Erschütterung wurde ja insbesonders die Wasseroberfläche bewegt und somit ein mechanischer Reiz von dort auf die Organismen ausgeübt. Da aber diese Reaktion, nämlich die Flucht von der Oberfläche weg, auch einige Zeit danach, nachdem sich das Wasser völlig beruhigt hat, fortdauert, so liegt eine andere Vermutung nahe: Durch die Schockwirkung wurde die negative Geotaxis in eine positive umgewandelt.

Ein scheinbares Umschlagen von einer positiven in eine negative Taxis oder umgekehrt können wir zwar bei den meisten Reizerscheinungen beobachten, doch handelt es sich darum, daß die Organismen bestrebt sind, das Optimum für sich aufzusuchen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Sie stehen daher einem Zuwenig wie auch einem Zuviel negativ gegenüber und beantworten eine Umweltsbedingung, welche sich nach ihrem Optimum hin verändert, mit positiver Taxis.

Die Reize der Umwelt können in zwei Gruppen geteilt werden: Reize, welche den Protisten ein Optimum angeben, und solche, welche nur eine Richtung angeben. Zu ersteren sind zu zählen die Chemotaxien, Phototaxien, Thermotaxien u. a. m., zu den Reizen, die nur eine Richtung angeben, die Geotaxis und Galvanotaxis. Wie nun aus den oben angeführten Versuchen hervorgeht, könnte es sich tatsächlich bei der Geotaxis um eine Umkehrung von einer positiven in eine negative handeln. Eine solche Umkehrung der Taxien in diesem Sinne konnte sonst noch nirgends beobachtet werden.

Es besteht jedoch im vorliegenden Fall durchaus die Möglichkeit, daß es sich um Aerotaxis handelt. Durch die Bewegung des Wassers wird in diesem die Luft mehr oder weniger verteilt, so daß sich auch die Organismen gleichmäßiger verteilen und von der Oberfläche wegschwimmen, wo vorher in bezug auf Luft die günstigste Bedingung herrschte.

2. Galvanotaxis.

Bis jetzt ist mir keine Literatur über Untersuchungen von elektrischer Reizbarkeit der Euglenen mit einem positiven Ergebnis bekannt. Nur bei Jennings (1910) findet sich eine Bemerkung zur Galvanotaxis der Flagellaten. Jennings bestreitet jede galvanische Reizbarkeit der Euglenen, wie auch vieler anderer Flagellaten. Leider findet sich in seiner Arbeit keinerlei Angabe über seine Versuchsanordnung, noch über die verwendeten Ströme.

Im Gegensatz zu Jennings stehen meine eigenen Ergebnisse. Es reagierten nicht nur Euglena olivacea auf elektrischen Strom, sondern auch, wie ich mich überzeugt habe, andere, nämlich Chilomonas (auch nach Jennings), Polytoma und Chlamydomonas (bei letzterer nach Jennings ausdrücklich keine Reaktion auf Strom).

Die Versuchsapparatur stellte mir freundlicherweise H. Jakl, welcher über die Galvanotaxis bei Ziliaten arbeitet, zur Verfügung. Sie besteht in der Hauptsache aus einem Gleichrichter, Schiebewiderständen, einem Milliamperemeter und Gelatineelektroden. Zur Überprüfung des Apparates sind noch einige Kontrollampen angebracht. Der Strom wurde aus dem Netz, 220-V-Wechselstrom, bezogen, gearbeitet wurde mit 220-V-Gleichstrom, 0,05 mA bis 10 mA.

Die ersten Reaktionen auf Strom zeigten die Euglenen (Euglena olivacea) bei einer Stromstärke von 0,05 mA. Einzelne Organismen stellten sich in negativ galvanotaktische Schwimmbewegungen ein und änderten ihre Schwimmrichtung auch nicht, solange der Strom eingeschaltet war. Bei rascher Umpolung änderten sie den Kurs, drehten sich im Kreis, bis sie wieder auf den negativen Pol zuschwammen.

Bei 0,1 mA torkeln und drehen sich alle Organismen, doch streben sie deutlich der Kathode zu. Bei Erhöhung der Stromstärke auf 0,2 mA beschleunigen sich die Schwimmbewegungen und alle Euglenen schwimmen rasch in gerader Linie auf die Kathode zu, wie man es auch bei den Paramaecien beobachten kann. Bei Erhöhung um weitere 0,1 mA zeigen viele Zellen am Hinterende eine Abrundung. Bei einer Stromstärke von 0,4 mA ändert sich nun das Bild gänzlich. Die Organismen drehen sich ununterbrochen um die Querachse, bewegen sich aber trotzdem langsam in der Richtung der Kathode fort.

Bei 0,5 mA erfolgt eine steigernde Reizung der Myonemata. Die Zellen kontrahieren sich oft, streben aber nach der Streckung wieder dem negativen Pol zu, wobei aber das Vorderende leicht gekrümmt ist. Typisch erfolgt bei allen Tieren, welche in der Richtung der Kathode stehen, bei Umschaltung der Stromrichtung eine heftige Kontraktion. Bei weiterer Erhöhung der Stromstärke werden die Zellen im gestreckten schwimmenden Zustand immer birnförmiger und die Kontraktionen immer häufiger und heftiger. Bei 0,9 mA werfen nach und nach alle Flagellaten die Geißel ab, welche im Moment der Loslösung vom Organismus unbeweglich ist; an der Bruchstelle bildet sich an der Geißel ein Bläschen. Schließlich strecken sich die Euglenen wieder und zeigen keine galvanotaktische Reizbarkeit mehr. Bei einer Steigerung der Stromstärke über 10 mA kugeln sich die Tiere mehr und mehr ab, verblassen und sterben ab. Ein Platzen der derben Kutikula, wie man es bei den Ziliaten beobachten kann, konnte ich in keinem einzigen Fall bemerken.

Diese Beobachtungen zeigen deutlich, daß die Euglenen elektrisch reizbar sind. Daß die Euglenen bei höheren Stromstärken nicht wie die Ziliaten zerplatzen, dürfte daher kommen, daß das Plasma dickflüssiger ist und die Pellicula derber ist als bei jenen.

Bei den oben geschilderten galvanotaktischen Versuchen benützte ich Organismen aus Kultur 24 (Erbsenschotendekokt), Kultur 66 (Kasein) und Kultur 64 (Knopp-Kasein) und hatte in allen Fällen das gleiche oben beschriebene Resultat.

Palmellen zeigten bis 10 mA keine Reaktion.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

3. Phototaxis.

Auf diesem Gebiet möchte ich vor allem die eingehenden Untersuchungen von Jennings erwähnen. Meine Beobachtungen decken sich vollständig mit den von Jennings an Euglena viridis gemachten.

Es scheint, daß Jennings, ohne es jedoch direkt auszusprechen, die optimalste Lichtintensität für konstant ansieht, dem ich jedoch nicht zustimmen könnte. Die Euglenen haben vielmehr die Fähigkeit, sich der gegebenen Lichtintensität bis zu einem bestimmten Grad anzupassen. Dies entnehme ich aus folgenden Versuchen.

Sämtliche im Dunkeln gehaltenen Individuen zeigten sich gegen Licht negativ eingestellt. Sogar die Palmellen stellten anfänglich ihre Chromatophoren so ein, daß sie möglichst wenig vom Licht getroffen werden.

Die Organismen, welche ich von der künstlichen Sonne nahm, zeigten gegen eine höhere wie auch niederere Helligkeit Fluchtreaktion. Ich setzte einen Tropfen aus einer Kultur an der künstlichen Sonne einer gegenüber dieser stärkeren Beleuchtung aus. Alle Zellen sammelten sich an der Schattenseite des Tropfens an. Als ich nach etwa einer Viertelstunde wieder einen Blick darauf machte, sah ich, daß alle Organismen wieder gleichmäßig im Tropfen verteilt waren. Als ich den Objektträger mit dem Tropfen ein klein wenig von der Lichtquelle wegrückte, strebten alle Euglenen dieser zu, obwohl die Lichtintensität noch immer höher war als an der künstlichen Sonne. Dieselbe Intensität, die vorher eine Fluchtreaktion hervorgerufen hat, bewirkt jetzt eine positive Phototaxis[1].

Diese Reaktion kann ich mir nicht anders erklären, als daß sich inzwischen die Euglenen an diese Helligkeit angepaßt haben und diese Lichtintensität für sie jetzt die optimale ist. Ich stellte diesbezüglich mehrere Versuche an und kam immer zu den gleichen Ergebnissen.

Die Bewegungen bei den Fluchtreaktionen hat Jennings, dessen Arbeit ich vorhin erwähnte, vortrefflich aufgelöst und beschrieben, so daß nichts mehr hinzuzusetzen ist.

Leider stand mir bei meinen Versuchen kein Photometer zur Verfügung, so daß sie ungenau, lückenhaft und ohne Zahlenangaben sind. Interessant wären auch die Reaktionen auf farbiges Licht, doch sind dazu entsprechende Lichtfilter notwendig, welche ich mir leider auch nicht beschaffen konnte.

[1] Näheres über Phototaxis bei Euglena zumal bei Oltmann (1917).

VII. Untersuchungstechnik.

Um die Euglenen im Leben beobachten zu können, empfiehlt es sich, sie im hängenden Tropfen zu beobachten, doch ist darauf zu achten, daß die Gläser und Pipetten peinlichst sauber sind, da die Organismen äußerst empfindlich sind. Um die Beobachtung zu erleichtern, dürfen sich im Tropfen nicht zu viele Zellen befinden.

Eine Lebendbeobachtung zwischen Objektträger und Deckglas ist weniger empfehlenswert, da die relativ großen Zellen leicht eingeklemmt werden und sich dabei die Chromatophoren, welche am empfindlichsten sind, in ihrer Form verändern; ferner der Nukleus und die Pyrenoide verquellen. Außerdem wird dann auch die ganze Form der Zelle untypisch und mit den Organismen ist nichts mehr anzufangen.

Die Präparation und Färbung kann man in den Zentrifugierröhrchen durchführen, doch verkleben dann durch die Geißeln die Individuen leicht zu Klumpen; außerdem ist diese Methode wegen der Unkontrollierbarkeit während der Färbung und wegen der Schwierigkeit eines schnellen Farbstoffwechsels für viele Färbungen unbrauchbar. Am besten klebt man die Objekte auf den Objektträger. Dazu macht man den Objektträger fettfrei, trägt einen dünnen Film Eiweißglyzerin auf, darauf den Tropfen mit den Organismen, dazu den Fixierer. Nun läßt man den Tropfen etwas antrocknen, das heißt ausbreiten, bis die einzelnen Zellen die Wasseroberfläche aufheben, was man deutlich sieht, wenn man den Objektträger schräg gegen das Licht hält. Dann überschüttet man ihn mit einer dünnen Lösung Zelloidin, läßt den Äther etwas verdunsten (etwa $^1/_2$ Minute) und bringt dann den Objektträger in 70%igem Alkohol zur Härtung, wobei auch der Fixierer entfernt wird. Nun ist das Objekt für die Färbungen bereit. Im folgenden möchte ich meine Resultate bei verschiedenen Färbungsmethoden, welche ich bei Euglena olivacea durchführte, beschreiben.

Löfflers Geißelbeize. Geißel und Zelle tiefschwarz. Da bei der Färbung mit Eisenhämatoxylin die Geißel auch sehr schön hervortritt, man aber auch in der Zelle feine Details herausbekommt, so hat die Löfflersche Färbung wenig Bedeutung, da sie in der Zelle keine Differenzierungen erkennen läßt.

Opalblauausstrich (nach Breßlau). Die Farbe dringt in die Zelle ein, so daß zwar die Lage des Nukleus erkennbar wird, jedoch von einer Oberflächenstruktur nichts zu sehen ist. Auch vorangehende Fixierung durch Hitze oder Chemikalien ändert nichts an diesem Resultat.

Haemalaun (Mayer) — Eosin. Die Kerne zeichnen sich scharf schwarzblau, das Plasma rot.

Boraxkarmin. Die Kerne kräftig rot, das Plasma rosa. Die Geißel schwach rötlich, gerade noch erkennbar.

Säurefuchsin (24 Stunden). Der Kern dunkelrot, Plasma rosa, Pyrenoide kräftig rot, Chromatophoren rötlich, Geißel dunkelrot. Ferner ist die Vakuole deutlich sichtbar.

Mallory. So hübsch diese Färbung für histologische Schnitte ist, so wenig brauchbar ist sie für dieses Objekt. Nukleus rot, Plasma hellrot.

Eisenhämatoxilin (Heidenhein). Nukleus schwarz, Geißel schwarz, Plasma hellviolett, bei sehr hellen Präparaten (lange differenziert) ist der Nukleolus sichtbar. Die Vakuole ist zu erkennen.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

VIII. Zusammenfassung.

Die wichtigsten Momente dieser Arbeit lassen sich folgendermaßen zusammenfassen.

Euglena olivacea ist keinesfalls auf rein pflanzliche Ernährung angewiesen, sondern kann auch ohne Assimilation leben. Werden viele organische Substanzen geboten, so verzichten die Organismen trotz guter Lichtverhältnisse auf die Assimilation und ernähren sich heterotroph, wobei sie jedoch den Assimilationsapparat zurückbilden. Wird die Assimilationstätigkeit unterbunden, indem kein Licht geboten wird, jedoch nur wenig organische Substanz zur Verfügung gestellt, so werden die Chromatophoren wohl auch rückgebildet, es treten jedoch Hämatochrombläschen auf, was pathologisch aufgefaßt werden kann.

Die Form, Farbe und Zahl der Chromatophoren, welche als Artenmerkmal betont werden, ist nicht konstant, sondern abhängig von den Ernährungs- und Lichtverhältnissen. Ebenso variabel ist die Zahl der Pyrenoide.

Die Paramylumkörner stellen Reservestoffe dar, jedoch keine Assimilationsprodukte, da sie auch dann gebildet werden, wenn keine Assimilation möglich ist.

Euglena olivacea reagiert auf elektrischen Strom durch Lokomotionen und Kontraktionen des Hinterendes. Die Lokomotionen führen sie in Richtung auf den negativen Pol zu. Die Reizschwelle liegt sehr tief, nämlich um 0,05 mA. Bei Erhöhung der Stromstärke zerplatzen die Organismen jedoch nicht, wie man es bei den Ziliaten beobachten kann, sondern werfen die Geißel ab und kugeln sich mehr und mehr ab. Die gebildeten Kugeln stellen jedoch keine Zysten dar, sondern abgestorbene Individuen.

Während meiner mehrjährigen Beschäftigung mit den Flagellaten bin ich immer mehr zu der Ansicht gekommen, daß eine Teilung der Flagellaten in Phytomastigina und Zoomastigina ungerechtfertigt, willkürlich und künstlich ist. Ferner, wenn man schon nicht die Protisten als eigenes Reich den Metazoa und Metaphyta gegenüberstellt mit dem Hinweis auf tierische Entwicklungstendenzen bei Ziliata und Sporozoa und pflanzliche bei den Bacillariophyta (Diatomeae), so müßte man doch den Mastigophoren eine Zwischenstellung zwischen Tier und Pflanze einräumen. Will man ihnen aber auch diese unbequeme Zwischenstellung nicht einräumen, dann muß man die Flagellaten als Ganzes dem Tierreich zuordnen, wie es Kühn macht, und die so unberechtigte Teilung

unterbleiben lassen. Es kommen zwar in den Ordnungen, welche man zu den Phytomastiginen gestellt hat, gefärbte Formen vor, doch sind diese in der Minderzahl, und die tierische Ernährungsart überwiegt auch dort.

An dieser Stelle danke ich allen Professoren, welche mich in meiner Arbeit unterstützt haben, insbesondere Herrn Prof. Dr. Rainer Schubert-Soldern, Vorstand des Zoologischen Institutes der Hochschule für Bodenkultur Wien, für wertvolle Anregungen und für die mich zu überaus großem Dank verpflichtende Unterstützung.

IX. Literaturverzeichnis.

Blochmann, F., Über die Kernteilung bei Euglenen. Biol. Zentralblatt, Bd. 14, 1900.
Bracher, R., Observations of Euglena deses. Annal. Bot., Bd. 33, 1919.
Bütschli, O., Mastigophoren. Protozoa II, 1883.
Cohn, O., Zeitschr. f. wiss. Zool., 1853.
Doflein-Reichenau, Protistenkunde. Jena 1949.
Ehrenberg, R., Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen.
France, R., Zur Morphologie und Physiologie der Stigmata der Mastigophoren. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 56, 1893.
Gicklhorn, J., Notiz über Euglena cyclopicola n. sp. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 51, 1926.
Haase, G., Euglena sanguinea Ehrenb. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 48. 1925.
Hall, R. P., Effects of carbohydrates on growth of Euglena anabaena var. minor in darkness. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 82, 1934.
— Selective effects of inorganic culture media on bacteriafree stains of Euglena. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 93, 1940.
Hartmann, M., Praktikum der Protozoologie. Jena 1928.
Hoefler, K. und L., Osmoseverhalten und Nekroseformen von Euglena. Protoplasma, Bd. 41, 1952.
Hofmeister, L., Die Pflanzenzelle. 1867.
Jahn, T. L., Studies on the physiology of the Euglenoid flagellates. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 79, 1933.
Jennings, H. S., Das Verhalten der niederen Organismen. Leipzig 1910.
Jensen, P., Über den Geotropismus niederer Organismen. Arch. f. d. ges. Physiologie, Bd. 53, 1913.
Klebs, G., Die Organisation einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehung zu Algen und Infusorien. Untersuchungen aus dem bot. Inst. Tübingen 1882.
Koehler, O., Galvanotaxis. Handb. d. norm. u. path. Physiologie, Bd. 11, Berlin 1927.
Kühn, A., Morphologie der Tiere in Bildern. Bd. 1: Flagellaten, Berlin 1921.
Lemmermann u. Pascher, Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Bd. 2, 1914.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Mainx, F., Einige neue Vertreter der Gattung Euglena. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 54, 1927.
— Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Euglenen. Arch. f. Protistenkunde, Bd. 60, 1928.
Müller, O. F., Animalcula infusoria fluviatilia et marina. 1786.
Oltmanns, F., Über Phototaxis. Zeitschr. f. Bot. Bd. 9, 1917.
Pringsheim, H., Zur Physiologie der Euglena gracilis. Beitr. z. Biol. d. Pflanze II, 1914.
Schmitz, Fr. v., Die Chromatophoren. 1882.
Schwarz, F., Der Einfluß der Schwerkraft auf die Bewegungsrichtung von Chlamydomonas und Euglena. Ber. d. Deutsch. Bot., Ges. Bd. 2, 1884.
Stein, Fr. v., Der Organismus der Infusionstiere. 1878.
Ternetz, Ch., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis Klebs. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 51, 1912.
Zumstein, H., Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis Klebs. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 34, 1900.